

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Факультет хімії та фармації
Кафедра фармацевтичної хімії

Дипломна робота

бакалавр

на тему: «Аналіз протисудомної дії пропоксазепаму на моделі
судом, індукованих бемегридом»

«Analysis of anticonvulsant effect of propoxazepam on a model of bemegride-induced seizures»

Виконала: студентка денної форми навчання
напряму підготовки 6.040101 Хімія
Лук'янова Марина Павлівна

Керівник: к. б. н., доц. Сівко Г. І. _____
(підпис)
Рецензент: к. б. н., доц. Кобернік А. О.

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від ____ червня 2019 р.

Захищено на засіданні екзаменаційної комісії № __
протокол № ____ від «____» _____ 2019 р.
Оцінка _____/_____/_____
(за національною шкалою, за шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри
____ акад. НАН України Андронаті С. А. _____
(підпис)

Голова екзаменаційної комісії
_____ д. х. н., проф. Ішков Ю.В.
(підпис)

Одеса – 2019

ЗМІСТ

ЗМІСТ	2
Вступ.....	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	5
1.1. Епілепсія та причини виникнення	5
1.2. Механізм розвитку епілепсії	9
1.3. Лікування епілепсії	10
1.4. Алгоритми лікування епілепсії	11
1.5. Сучасні засоби, використовуються при лікуванні епілепсії.....	12
1.6. Механізми протиепілептичної дії	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	17
2.1. Реактиви та матеріали.....	17
2.2. Тварини	17
2.3. Підготовування тварин до експерименту.....	17
2.4. Визначення протисудомної дії на моделі бемеглід-індукованих судом.18	
2.5. Статистична обробка експериментальних даних.....	18
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	19
ВИСНОВКИ	32
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	33

Вступ

Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), що є основним гальмівним медіатором в мозку, здійснює свої ефекти через іонотропні ГАМКА і метаботропні ГАМКВ рецептори. ГАМКА-рецепторний комплекс (ГАМКА-РК) належить до суперсімейства Cys-петельних ліганд-керованих іонних каналів, що формується п'ятьма субодинацями, які мають гомологію вихідних амінокислотних послідовностей і структурну гомологію [1, 2]. Більшість представників ГАМКА-РК, представлених в мозку, утворені двома α -, двома β - і однією γ - субодинацею [3, 4] Всі вони зв'язують ГАМК, але найбільш висока афіність відзначається для α -субодинаці.

Існує низка речовин, що зв'язуються з ділянками рецептора, відмінних від активного центру. Вони здатні модулювати функцію ГАМКА-РК через різні алостеричні сайти та можуть бути позитивними тобто агоністами (етанол, барбітурати, бенздіазепіни, мусцимол, нейроактивні стероїди, Z-препарати, інгаляційні анестетики) або негативними тобто антагоністам (бемегрид, коразол, бікукулін, флумазеніл, фуросемід, пікротоксин, RO15-4513). Незважаючи на те, що агоністи є різними за структурою, на функціональному рівні їх активація призводить до підвищення часу існування комплексу рецептор-ГАМК у активному стані та розвитку стійкої гіперполяризації клітин із подальшим гальмуванням сигналів збудження. Більшість із них мають широке застосування в медицині як протисудомні, анксиолітичні, снодійні, анестезуючі і знеболюючі агенти, а антагоністи, окрім флумазенілу, використовуються насамперед як засоби фармакологічного аналізу.

Відомо [4], що ГАМК, її агоністи і антагоністи не конкурують з бенздіазепінами за місця зв'язування і їх дія має місце тільки в присутності ГАМК. Той факт, що бенздіазепіни полегшують перебіг судом, викликаних антагоністами свідчить не тільки про складність зазначеного комплексу, але й тісний контакт його компонентів. Тому метою даної роботи була

фармакологічна оцінка протисудомної дії пропоксазепаму по відношенню до судом, викликаних бемегридом для визначення взаємодії місць зв'язування сполук на ГАМК_A-РК.

Таке вивчення представляє особливий інтерес, оскільки дозволяє розкривати механізми, що лежать в основі даної форми нейротоксичного процесу та розробляти ефективні протисудомні препарати.

Для досягнення поставленої мети було необхідно вирішити наступні завдання:

- визначити середню ефективну дозу пропоксазепаму на моделі бемегрі-індукованих судом у мишей;
- охарактеризувати протисудомну активність пропоксазепаму з використанням таких показників судомного нападу, як час та кількість виникнення міоклонічних та клонічних судом.
- визначити вплив пропоксазепаму на співвідношення компонентів судомного нападу експериментальних тварин.

ВИСНОВКИ

1. Величина середньої ефективної дози пропоксазепам на моделі бемегрид-індукованих судом складає $0,39 \pm 0,05$ мг/кг ($0,96 \pm 0,12$ мкмоль/кг) із кутом нахилу кривої $s = 1,19$.

2. Із підвищенням дози пропоксазепаму відмічається збільшення часу виникнення міоклонічних судом, що вказує на здатність сполуки підвищувати функціональну активність ГАМК-ергічної системи, блокованої бемегридом. У дозі 2 мг/кг, при якій захисна дія пропоксазепаму сягає 100 %, значно підвищується латентний час розвитку тонічних судом (до 13 хв) та зростає їх кількість, однак це може бути пояснене тим, що активність епілептоформних осередків здатна більш ефективно гальмуватись, завдяки чому зростає питома частота цього виду судом. В дозі 4 мг/кг пропоксазепам повністю блокував розвиток судом цієї групи важкості.

3. При введенні відносно високих доз пропоксазепаму ($>1,5$ мг/кг) спостерігається більш ефективне гальмування тонічних судом, із майже повним представленням судомного нападу у вигляді міоклонічного компоненту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Macdonald R.L., Olsen R.W. GABA_A receptor channels. *Annu. Rev. Neurosci.* 1994;17:569–602.
2. Семьянов А. В. ГАМК-эргическое торможение в ЦНС: типы ГАМК-рецепторов и механизмы тонического ГАМК опосредованного тормозного действия. *Нейрофизиология / Neurophysiology.*—2002.— 34, № 1 p.82-92.
3. Tretter V, Ehya N, Fuchs K, Sieghart W. (1997) Stoichiometry and assembly of a recombinant GABA_A receptor subtype. *J Neurosci.* 17(8):2728-37.
4. Jentsch T.J., Stein V., Weinreich F., Zdebik A.A. 2002. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol. Rev.* 82: 503-568.
5. Домин А.Д., «Патология высшей нервной деятельности», М., 1972.
6. Ласков В.Б., Сумин С.А. Неотложная неврология / В.Б. Ласков, С.А. Сумин //М. «Медицинское информационное агентство». – 2010. – 376 с.
7. Ливанова Л.М., «Нарушение высшей нервной деятельности, их патологии», М., 1980.
8. Большая медицинская энциклопедия, Эксмо, 2005.
9. Goldberg, EM; Coulter, DA (May 2013). Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction.. *Nature reviews. Neuroscience* 14 (5): 337–49
10. Сосудистая и нервная система в норме и патологии, М., 1975.
11. Субботин А.В, Семенов В.А. Эпилепсия / А.В. Субботин, В.А. Семенов //Учебное пособие для студентов лечебных факультетов медицинских вузов. К. – 2012. – 14 с.
12. Hammer, edited by Stephen J. McPhee, Gary D. (2010).
13. National Institute for Health and Clinical Excellence (January 2012). Chapter 9: Classification of seizures and epilepsy syndromes. *The Epilepsies: The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care.* National Clinical Guideline Centre. с. 119–129.
14. Oby, E; Janigro, D (November 2006). The blood-brain barrier and epilepsy..

Epilepsia 47 (11): 1761–74.

15. Jerome Engel, Jr., Timothy A. Pedley, ред. (2008). *Epilepsy : a comprehensive textbook* (вид. 2nd ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. с. 483.

16. Бурд Г.С. Международная классификация эпилепсии и основные направления ее лечения. / Г.С. Бурд // *Ж. невропатол. и психиатр.* – 1995. – № 15 (3). – С. 4–13.

17. Власов П.Н., Филатова Н.В., Дрожжина Г.Р. Перспективы использования лекарственной формы Депакин-Хроносфера// *Фарматека* 2009. - №15 (189). — С. 39-43.

18. Фармакология. Учебник — Харкевич Д.А. — 2015 год — 760 с

19. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських ЗАСОБІВ. Методичні рекомендації / Стефанов О.В. // Київ: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.

20. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel Киев: Морион, 2001. — 408 с. — ISBN 966-7632-33-4.

21. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 334 с

22. Головенко М.Я., Ларіонов В.Б., Редер А.С., Волощук Н.І., Валіводзь І.П., Таран І.В. Активация ГАМК-ергічної системи пропілоксилохідним 1,4-бенздіазепіну на моделях нейропатичного болю та судом, що індуковані коразолом.//*Журн. Національної академії медичних наук України.* - 2016. - № 3-4. - С.318- 324.

23. Волощук Н. І., Редер А. С., Головенко М. Я., Таран І. В., Пашинська О. С. Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії пропоксазепаму. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2017;1(52):3-11.

24. Редер А.С., Андронаті С.А., Головенко М.Я., Павловський В.І., Кабанова

Т.А., Халімова О.І., Ларіонов В.Б., Волощук Н.І. Застосування 7-бром-5-(о-хлорфеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону для гальмування нейропатичного болю та судом різної етіології. Патент України на винахід № 115205. 2017 Вер 25.

25. Sigel E, Luscher BP (2011) A closer look at the high affinity binding site for benzodiazepines on GABA_A receptors. *Cur Top Med Chem* 11: 241–246.

26. Mistry D.K., Cottrell GA. Actions of steroids and bemegride on the GABA_A receptor of mouse spinal neurones in culture. *Exp Physiol.* 1990. -75(2):199-209.

27. Olsen R. Picrotoxin-like channel blockers of GABA_A receptors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006. - 18; 103(16): 6081–6082.

28. Sigel E., Steinmann M. Structure, Function, and Modulation of GABA_A Receptors. *The journal of biological chemistry*, 2012 . - V. 287(48), p. 40224 – 40231.

29 . Bloom P., Madeja M., Mushhoff U., Specmann E.-J. Effects of pentylenetetrazole on GABA receptors expressed in oocytes of *Xenopus laevis*: extra- and intracellular sites of action // *Neurosci. Let.*, 1996. - 205. P. 115-118.

30. Glykys J., Mody I. Activation of GABA_A Receptors: Views from Outside the Synaptic Cleft. *Neuron*, 2007. - 56, p.763-770.

31. Gatch M.B. The discriminative stimulus effects of pentylenetetrazol as a model of anxiety: recent developments. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002, 26(4) P.429-439.

32. Chang Y, Weiss DS. Site specific fluorescence reveals distinct structural changes with GABA receptor activation and antagonism. *Nat Neurosci.* 2002;5:1163–1168.

33. Rogers CJ, Twyman RE, Macdonald RL Benzodiazepine and-carboline regulation of single GABA_A receptor channels of mouse spinal neurones in culture. *J Physiol.* 1994, 475:69–82.